

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 19 NOV 2004

WIFO

PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts M/43128-PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/09453	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 26.08.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 26.08.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12P13/04		
Anmelder BASF AKTIENGESELLSCHAFT et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.



2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 10 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

- ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 24.03.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 18.11.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Douschan, K Tel. +49 89 2399-8702 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-40 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Sequenzen, Seiten

1-130 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-16 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Zeichnungen, Blätter

1/3-3/3 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/09453

- ☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
☐ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.

2. ☒ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.

3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3

- ☐ erfüllt ist.
☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:

siehe Beiblatt

4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:

- ☒ alle Teile.
☐ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung
Neuheit (N) Ja: Ansprüche 4
Nein: Ansprüche 1-3,5-16
Erfinderische Tätigkeit (IS) Ja: Ansprüche
Nein: Ansprüche 1-16
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) Ja: Ansprüche 1-16
Nein: Ansprüche:

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/09453

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

1). Priorität

Das Prioritätsdokument DE 10239082 stützt die vorliegende Patentanmeldung zur Gänze, so daß das Prioritätsdatum 26.08.02 gültig ist.

In der Folge werden die Dokumente WO 02/097096 (Publikationsdatum 05.12.2002) und "J. Biotechnol.", Publikationsdatum 12.06.2003), beide im Internationalen Recherchenbericht als P-Dokumente markiert, im internationalen Prüfungsverfahren nicht in Betracht gezogen.

Die Anmelderin wird jedoch vorsorglich darauf hingewiesen, daß WO 02/097096 vor dem Anmeldetag der vorliegenden Anmeldung angemeldet wurde und daher im regionalen Verfahren vor dem EPA bei der Neuheitsbeurteilung eine Rolle spielen kann.

2). Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

Diese Behörde hat festgestellt, daß die internationale Anmeldung mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen enthält, die nicht durch eine einzige allgemeine erfinderische Idee verbunden sind (Regel 13.1 PCT), nämlich:

- I: Ansprüche 1-14 und 16;
- II: Anspruch 15.

Die Gründe dafür sind die folgenden:

Erfindung 1 liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur fermentativen Herstellung einer schwefelhaltigen Feinchemikalie (L-Methionin) bereitzustellen, welche dadurch gelöst wurde, dass man eine coryneforme Bakterienkultur einsetzt, in der zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz, die für ein Protein mit O-Acetyl-Homoserin-Sulphydrolase (metY) - Aktivität kodiert, exprimiert wird.

Erfindung 2 hat zur Aufgabe, ein L-Methionin-haltiges Tierfuttermittel Additiv aus Fermentationsbrühen bereitzustellen. Dieses Problem wurde dadurch gelöst, indem man *irgendeinen* L-Methionin produzierenden Mikroorganismus kultiviert und fermentiert, Wasser und Biomasse entfernt und die entstandene Fermentationsbrühe trocknet. Erfindung 2 enthält keine Referenz zu Erfindung 1.

Da Erfindungen 1 und 2 unterschiedliche Aufgaben lösen, sind die Lösungen derselben ebenfalls unterschiedlich und nicht durch eine einzige gemeinsame erfinderische Idee verbunden.

Die speziellen technischen Merkmale, die die jeweiligen Erfindungen zum Stand der Technik beitragen (Verwendung eines speziellen Mikroorganismus bei Erfindung 1; Aufbereitung einer Fermentationsbrühe irgendeines Mikroorganismus für Erfindung 2) sind ebenfalls unterschiedlich und daher nicht einheitlich.

Im Hinblick auf die Kürze des PCT-Verfahrens sowie aufgrund der Tatsache, daß die zusätzliche Recherche und Sachprüfung nicht mit grossem Aufwand verbunden war und Anspruch 15 sowieso nicht neu erscheint (siehe unten), wird im internationalen Verfahren nicht zur Zahlung einer zusätzlichen Gebühr aufgefordert.

Dieser Punkt wird jedoch im regionalen Verfahren vor dem EPA zur Sprache kommen.

Ferner wird bezüglich Einheitlichkeit der Erfindung auf den letzten Absatz von Punkt 3)e) unten hingewiesen.

3). Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

- a) Die in Internationalen Recherchenbericht angeführten Dokumente werden durch folgende Abkürzungen wiedergegeben:

D1: WO 02/18613 A (DEGUSSA) 7. März 2002 (2002-03-07)

D2: WO 02/10206 A (DEGUSSA) 7. Februar 2002 (2002-02-07)

D3: WO 02/097096 A (DEGUSSA) 5. Dezember 2002 (2002-12-05)

D4: WO 02/10209 A (DEGUSSA) 7. Februar 2002 (2002-02-07)

D5: HWANG BYUNG-JOON ET AL: "Corynebacterium glutamicum utilizes both transsulfuration and direct sulfhydrylation pathways for methionine biosynthesis" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Bd. 184, Nr. 5, März 2002 (2002-03), Seiten 1277-1286, XP002269798 ISSN: 0021-9193

D6: REY DANIEL ALEXANDER ET AL: "The putative transcriptional repressor McbR, member of the TetR-family, is involved in the regulation of the metabolic network directing the synthesis of sulfur containing amino acids in

Corynebacterium glutamicum." JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, Bd. 103, Nr. 1, 12. Juni 2003 (2003-06-12), Seiten 51-65, XP001152914 ISSN: 0168-1656 (ISSN print)

D7: WO 93/17112 A (GENENCOR INT) 2. September 1993 (1993-09-02)

Wie bereits unter Punkt 1) oben ausgeführt, werden D3 und D6 im PCT-Verfahren nicht in Betracht gezogen.

b) Die vorliegende Patentanmeldung:

Die vorliegende Patentanmeldung betrifft in **Ansprüchen 1-14** ein Verfahren zur fermentativen Herstellung einer schwefelhaltigen Feinchemikalie (L-Methionin), wobei eine coryneforme Bakterienkultur eingesetzt wird, in der zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz, die für ein Protein mit O-Acetyl-Homoserin-Sulfhydrolase (metY) - Aktivität kodiert, exprimiert wird.

Anspruch 15 betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin haltigen Tierfuttermittel Additivs aus Fermentationsbrühen, indem man *irgendeinen* L-Methionin produzierenden Mikroorganismus kultiviert und fermentiert, Wasser und Biomasse entfernt und die entstandene Fermentationsbrühe trocknet.

Anspruch 16 verwendet die im Verfahren von Ansprüchen 1-14 eingesetzten Mikroorganismen, so daß Anspruch 16 als Mehrstufenverfahren, das die Ansprüche 1-14 inkorporiert, angesehen wird.

Die vorliegende Anmeldung enthält folgende, für die Sachprüfung maßgebliche Mängel gemäß Artikel 5 und 6 PCT:

-) Der Ausdruck "schwefelhaltige Feinchemikalie" in den Ansprüchen (insbesondere Anspruch 1) und der Beschreibung ist so breit und undefiniert, daß er das Anspruchsbegehren unklar gestaltet. Außerdem ist aus der Beschreibung sowie den Beispielen klar, daß nur L-Methionin hergestellt wurde.
-) Das Merkmal "weniger als 100% Sequenzhomologie" in Anspruch 3 ist nichtssagend, da *alle* Sequenzen außer der metY-kodierenden aus Corynebacterium glutamicum ATCC 13032 vom Anspruchsumfang mitumfasst sind. Daher ist dieser Anspruch zu breit, vage und undefiniert und wird bei der Sachprüfung auch in seiner breitesten Form interpretiert.

-) Ansprüche 5 und 6 enthalten sogenannte "funktionelle Definitionen", d.h. ein Merkmal wird durch seine Funktion bzw. das durch es zu erreichende Ergebnis definiert. Im vorliegenden Fall bezieht sich die Beanstandung auf die "homologen Sequenzen", die nur durch ihre Funktion definiert sind und daher eine unzumutbare Arbeitsbelastung beim Testen auf die Funktionen beim Benutzer des Patentes erfordern.

Dieselbe Beanstandung wird auch gegen Ansprüche 10 - 12 erhoben, wo ein ebensolches funktionelles Merkmal "....und so mutiert ist, daß....." das Anspruchsbegehren völlig vage und undefiniert gestaltet.

Ansprüche 5, 6 und 10 -12 sind daher vage und undefiniert und im Lichte der Beschreibung viel zu breit.

Da der Ausdruck "homolog" an sich nicht definiert ist, werden auch die Ansprüche 5 und 6 in ihrer breitesten Definition geprüft.

c) Kurze Diskussion der Dokumente des Standes der Technik:

D1 offenbart die Herstellung von "schwefelhaltigen Feinchemikalien" (insbesondere L-Lysin und L-Methionin) mit coryneformen Bakterien, in denen das metY-Gen überexprimiert wurde (siehe insbesondere S. 10, Anspruch 10 sowie Beispiel 6).

Da das in D1 verwendete Gen (vorzugsweise aus *C. glutamicum* ATCC 13032) auch Sequenzabwandlungen haben kann - siehe z.B. S. 5 und Ansprüche 1 und 5 in D1, ist D1 auch relevant für die vorliegenden Ansprüche, die eine (unspezifische) Sequenzhomologie betreffen. Weitere mögliche genetische Veränderungen werden auf S. 13/14 in D1 offenbart.

Außerdem wird ein Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin-haltigen Futtermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, das dieselben Schritte wie im vorliegenden Anspruch 15 umfaßt, offenbart - siehe Anspruch 25 in D1.

D1 ist somit neuheitsschädlich für Ansprüche 1-3 und 5-16, sowie relevant für die Beurteilung von erfinderischer Tätigkeit für die Ansprüche 1-16.

In diesem Zusammenhang wird außerdem betont, daß die Wiedergabe des Inhaltes von D1 auf S. 2 der vorliegenden Beschreibung nicht korrekt ist.

D2 und D4 beschreiben beide die Methionin-Herstellung mit coryneformen

Mikroorganismen wo u.a. auch das metY-Gen (über)exprimiert wird (siehe z.B. S. 37 und Anspruch 15 in D2, sowie Anspruch 16 in D4).

Außerdem werden Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin-haltigen Futtermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, das dieselben Schritte wie im vorliegenden Anspruch 15 umfaßt, offenbart - siehe Anspruch 19 in D2 und Anspruch 20 in D4. Somit sind D2 und D4 ebenfalls neuheitsschädlich für die anmeldungsgemässen Ansprüche 1-3 und 5-16.

D5 beschreibt die Rolle des metY-Gens bei der Biosynthese von Methionin in transgenen Bakterien und ist somit ein wichtiges Dokument für die Beurteilung von erfinderischer Tätigkeit.

D7 betrifft die biosynthetische Herstellung von Aminosäuren in Mikroorganismen. Beispiel 4 beschreibt die Herstellung von Methionin mit Bakterien (z.B. E. coli und C. glutamicum transformiert mit einem Gen das für Homocystein-Methylase codiert). Auf S. 4 wird abgehandelt, daß Homocystein Methylase ein anderer Name für O-Acetyl-Homoserin-Thiol-Lyase ist, das in der vorliegenden Anmeldung verwendete Enzym. Das metY-Gen wird zwar nicht erwähnt, jedoch ist D7 ein relevantes Dokument bei der Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit.

d) Neuheit - Art. 33(1) und (2) PCT:

Wie bereits unter Punkt c) oben ausgeführt ist der Gegenstand der Ansprüche 1-3 und 5-16 nicht neu im Lichte von D1, D2 und D4.

e) Erfinderische Tätigkeit - Art. 33(1) und (3) PCT:

Anspruch 4 ist zwar neu, sofern er keine unspezifischen Sequenzhomologien mitumfasst, jedoch kann keine erfinderische Tätigkeit anerkannt werden.

Der Unterschied zwischen der vorliegenden Patentanmeldung und dem Stand der Technik ist die Wahl der in Anspruch 4 aufgelisteten Mikroorganismen. Es ist nicht klar, welche Aufgabe mit diesen Mikroorganismen im Vergleich zu den aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren gelöst wird.

Es wird nochmals darauf hingewiesen, daß die Verwendung transgener Bakterien, die eine heterologe Nukleotidsequenz enthalten, welche für ein Protein mit O-Acetyl-Homoserin-Sulfhydrolase (metY) - Aktivität kodiert, bei der Herstellung von Methionin bekannt ist (siehe D1, D2, D4, D5 und D7). Die im Anspruch 4

aufgelisteten Bakterienstämme sind zwar in den genannten Dokumenten nicht erwähnt, jedoch sind besagte Bakterienstämme anscheinend bekannt dafür (siehe Beschreibung, z.B. S. 13-15, der vorliegenden Anmeldung), daß sie eine O-Acetyl-Homoserin-Sulphydrolase (metY) - Aktivität aufweisen. Es ist somit nicht klar, worin der Vorteil der Verwendung besagter Mikroorganismen gegenüber denen aus dem Stand der Technik liegt.

Die auf S. 40 der vorliegenden Beschreibung offenbarten Resultate eines Vergleichsversuches zeigen lediglich, daß der mit dem metY-Gen transformierte Mikroorganismus eine höhere Aktivität aufweist. Dies ist jedoch bereits aus dem Stand der Technik (siehe z.B. D1, S. 34) bekannt.

Es kann daher keine erfinderische Tätigkeit für den Gegenstand von Anspruch 4 anerkannt werden.

Es wird auch vorsorglich darauf hingewiesen, daß, sollte eine erfinderische Tätigkeit darin gesehen werden, daß diese speziellen Mikroorganismen ausgewählt wurden, so stellt die Auswahl jedes einzelnen Mikroorganismus eine eigene Erfindung dar, sodaß Anspruch 4 in 27 verschiedene Erfindungen zerfällt und somit nicht einheitlich wäre.

f) **Gewerbliche Anwendbarkeit - Artikel. 33(1) und (4) PCT:**

Der Gegenstand der Ansprüche 1-16 ist gewerblich anwendbar.

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP2003/009453



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference M/43128-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP2003/009453	International filing date (day/month/year) 26 August 2003 (26.08.2003)	Priority date (day/month/year) 26 August 2002 (26.08.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12P 13/04		
Applicant BASF AKTIENGESELLSCHAFT		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 10 sheets, including this cover sheet.
- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☒ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 24 March 2004 (24.03.2004)	Date of completion of this report 18 November 2004 (18.11.2004)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP2003/009453

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages 1-40, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages 1-16, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the drawings:
 pages 1/3-3/3, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
 pages 1-130, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

- These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP2003/009453

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See Supplemental sheet

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. _____

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

1) . Priority

The present application is fully supported by the priority document DE 10239082 and hence the priority date 26 August 2002 is valid.

Consequently, documents WO 02/097096 (publication date 5 December 2002) and "J. Biotechnol.", (publication date 12 June 2003), both marked as P documents in the international search report, are not taken into consideration in the international examination procedure.

However, as a precaution the applicant's attention is drawn to the fact that document WO 02/097096 was filed before the filing date of the present application and could therefore play a role in the assessment with regard to novelty during the regional procedure before the EPO.

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV.3

2). Lack of unity of invention

The Examining Authority has found that the international application comprises a number of inventions or groups of inventions not linked by a single general inventive concept (PCT Rule 13.1), that is to say:

- I: Claims 1-14 and 16;
- II: Claim 15.

The reasons are as follows:

The aim of **invention 1** is to provide a method for the fermentative production of a sulphur-containing fine chemical (L-methionine), which was achieved by the use of a culture of coryneform bacteria in which at least one heterologous nucleotide sequence coding for a protein with homoserine-O-acetyl-sulphydrolase (metY) activity is expressed.

The aim of **invention 2** is to provide an L-methionine-containing animal feed additive from fermentation broths. This was accomplished by cultivating and fermenting any microorganism producing L-methionine, removing water and biomass and drying the resulting fermentation broth. Invention 2 contains no reference to invention 1.

Since inventions 1 and 2 solve different problems the solutions thereto are likewise different and not linked by a single general inventive concept.

The special technical features each of the inventions

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV. 3

contributes to the prior art (use of a specific microorganism in invention 1; preparation of a fermentation broth of any microorganism in invention 2) likewise differ and therefore fail to meet the unity of invention requirement.

Since the PCT procedure was brief, and owing to the fact that the additional search and substantive examination did not entail much outlay and that claim 15 in any event does not appear to be novel (see below), the applicant is not invited to pay additional fees in the international procedure.

However, this point will be raised in the regional procedure before the EPO.

Moreover, as regards the unity of the invention, reference is made to the last paragraph of item 3.e) below.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 03/09453

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	4	YES
	Claims	1-3, 5-16	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-16	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

3.a) The international search report citations are numbered as follows:

D1: WO 02/18613 A (DEGUSSA) 7 March 2002 (2002-03-07)

D2: WO 02/10206 A (DEGUSSA) 7 February 2002 (2002-02-07)

D3: WO 02/097096 A (DEGUSSA) 5 December 2002 (2002-12-05)

D4: WO 02/10209 A (DEGUSSA) 7 February 2002 (2002-2-07)

D5: HWANG BYUNG-JOON ET AL: "Corynebacterium glutamicum utilizes both transsulfuration and direct sulfhydrylation pathways for methionine biosynthesis" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Vol. 184, No. 5, March 2002 (2002-03), pages 1277-1286, XP002269798 ISSN: 0021-9193

D6: REY DANIEL ALEXANDER ET AL: "The putative transcriptional repressor McbR, member of the TetR-family, is involved in the regulation of the metabolic network directing the synthesis of sulfur containing amino acids in Corynebacterium glutamicum." JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, Vol. 103, No. 1, 12 June 2003 (2003-06-12), pages 51-65,

XP001152914 ISSN: 0168-1656 (ISSN print)
D7: WO 93/17112 A (GENENCOR INT) 2 September 1993
(1993-09-02).

As already stated in item 1) above, documents D3 and D6 are not taken into consideration for the purpose of the PCT procedure.

3.b) The present application:

Claims 1-14 of the present application concern a method for the fermentative production of a sulfur-containing fine chemical (L-methionine) wherein a culture of coryneform bacteria is used in which a heterologous nucleotide sequence coding for a protein with an O-acetyl-homoserine-sulfhydrylase (metY) activity is expressed.

Claim 15 concerns a method for producing an L-methionine-containing animal feed additive from fermentation broths by cultivating and fermenting any microorganism producing L-methionine, removing water and biomass and drying the resulting fermentation broth.

Claim 16 makes use of the microorganisms used in the method according to claims 1-14, and hence claim 16 is considered a multiple-step method incorporating claims 1-14.

The present application contains the following defects (PCT Article 5 and 6) which are significant for the substantive examination:

-) the expression "sulphur-containing fine chemical" in the claims (especially claim 1) and the description is so broad and undefined that it leaves the subject matter for which protection is sought in the claim unclear. In addition, it is clear from the description and the examples that only L-methionine is produced;
-) the feature "less than 100 % sequence homology" in claim 3 is meaningless because the scope of the claim includes *all* the sequences apart from the metY-coding sequence from *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032. Consequently, claim 3 is too broad, vague and undefined and for the purpose of the substantive examination is hence interpreted in its broadest form.
-) Claims 5 and 6 contain so-called functional definitions, that is to say, a feature is defined in terms of its function, that is, the result to be obtained by it. In the present case this objection pertains to the "homologous sequences", which are defined only in terms of their function and therefore require the user of the patent to make an unreasonable effort when testing for these functions.

The same objection is also raised with regard to claims 10-12, wherein the above kind of functional feature, that is, "... and is mutated in such way as to ..." leaves the subject matter for which protection is sought completely vague and undefined.

Claims 5, 6 and 10-12 are therefore vague and undefined and, in the light of the description, much

too broad.

Since the term "homologous" is not defined per se, claims 5 and 6 are likewise interpreted as broadly as possible for the purpose of the examination.

3.c) Brief discussion of the prior art documents:

Document D1 discloses the production of "sulfur-containing fine chemicals" (especially L-lysine and L-methionine) using coryneform bacteria in which the metY gene was overexpressed (see in particular page 10, claim 10 and example 6).

Since the gene used in document D1 (preferably from *C. glutamicum* ATCC 13032) can also have sequence modifications - see, for example, page 5 and claims 1 and 5 of document D1 - document D1 is likewise relevant to the present claims relating to a (non-specific) sequence homology. Further possible genetic modifications are disclosed on pages 13 and 14 of document D1.

Document D1 further discloses methods for the production of an L-methionine-containing feed additive from fermentation broths, which comprises the same steps as the present claim 15 (see claim 25 in document D1). Document D1 is therefore prejudicial to the novelty of claims 1-3 and 5-16 of the application and relevant to the assessment of claims 1-16 with regard to inventive step.

In this regard the examiner wishes to point out that the content of document D1 was not accurately reproduced on page 2 of the present description.

Documents D2 and D4 both describe the production of methionine using coryneform microorganisms wherein, the, *inter alia*, metY gene is (over)expressed (see, for example, page 37 and claim 15 in document D1, and claim 16 in document D4).

In addition, methods for producing an L-methionine-containing feed additive from fermentation broths are disclosed, which comprise the same steps as the present claim 15 (see claim 19 in document D2 and claim 20 in document D4). Documents D2 and D4 are therefore likewise prejudicial to the novelty of the present claims 1-3 and 5-16.

Document D5 describes the role of the metY gene in the biosynthesis of methionine in transgenic bacteria and is therefore important for the assessment with regard to inventive step.

Document D7 concerns the biosynthetic production of amino acids in microorganisms. Example 4 describes the production of methionine using bacteria (for example, *E. coli* and *C. glutamicum* transformed by a gene coding for homocysteine-methylase). Page 4 states that homocysteine methylase is another name for O-acetyl-homoserine-thiol-lyase, that is, the enzyme used in the present application. Although the metY gene is not mentioned, document D7 is relevant to the assessment with regard to inventive step.

3.d) Novelty (PCT Article 33(1) and (2)):

As already stated in item c) above, the subject matter of claims 1-3 and 5-16 is not novel in the

light of documents D1, D2 and D4.

3.e) Inventive step (PCT Article 33(1) and (3)):

Although claim 4 is novel insofar as it does not encompass any non-specific sequence homologies, it is not considered to involve an inventive step.

The present application differs from the prior art by virtue of the selection of the microorganisms listed in claim 4. It is not clear what problem is solved by these microorganisms as compared with the methods known from the prior art.

The applicant's attention is again drawn to the fact that the use of transgenic bacteria containing a heterologous nucleotide sequence coding for a protein with an O-acetyl-homoserine-sulphydrolase (metY) activity in the production of methionine is known (see documents D1, D2, D4, D5 and D7).

Although the bacterial strains listed in claim 4 are not mentioned in the above documents, these strains appear to be known for the fact (see description, for example pages 13-15, of the present application) that they have an O-acetyl-homoserine-sulphydrolase (metY) activity. It is therefore not clear what advantage there might lie in using the above microorganisms as opposed to those known from the prior art.

The results of a comparative test disclosed on page 40 of the present description show only that the microorganism transformed with the metY gene has a higher activity. However, this is already known from the prior art (see, for example, page 34 of document

D1) .

No inventive step can therefore be recognized for the subject matter of claim 4.

As a precaution the examiner also wishes to point out that, should the inventive step be considered to consist in the selection of these specific microorganisms, the selection of each individual microorganism would constitute a separate invention, such that claim 4 would result in 27 different inventions and hence not meet the unity of invention requirement.

6) . Industrial applicability (PCT Article 33(1) and (4)) :

The subject matter of claims 1-16 is industrially applicable.